บทที่ 4

ผลการวิจัย

ผลของ curcuminoids และ analogs ต่อเซลล์ไตเพาะเลี้ยง

สำหรับสาร curcuminoids และ analogs ที่นำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการทดสอบความเป็นพิษ (toxicity) ของสารต่อเซลล์ก่อนที่จะคัดเลือกสาร และความเข้มข้นของสารที่เหมาะสมในการนำมาทดสอบต่อผลการต้านการตายในเซลล์ไตเพาะเลี้ยงหลังจากได้รับการเหนี่ยวนำการตายด้วยแคดเมียม ($CdCl_2$) ซึ่งสารที่มีความเหมาะสมในการนำมาใช้ศึกษา จะต้องเป็นสารที่ไม่มีความเป็นพิษ (non-toxicity) ต่อเซลล์ โดยทำการทดสอบให้เซลล์ไตเพาะเลี้ยงได้รับสารโครงสร้างที่ 1, 2 และ 3 ซึ่งเป็นสารต้นแบบ (curcuminoid compounds) รวมทั้งสารโครงสร้างที่ 4, 5 และ 6 ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ (analogs) ในระดับความเข้มข้น 5, 10, 20, 30 และ 40 μM เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยเกณฑ์ที่ใช้ในการคัดเลือกสารที่จะนำไปศึกษาจะต้องเลือกสาร และระดับความเข้มข้นที่ไม่ทำให้การมีชีวิตของเซลล์ (% cell viability) ลดลงต่ำกว่า 95% (หมายถึงสารที่นำมาใช้ไม่ควรมีผลทำให้การมีชีวิตของเซลล์ลดลงเกิน 5 % เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม)

ผลการทดสอบความเป็นพิษ (toxicity) ของความเข้มข้นของสารแต่ละสาร เมื่อพิจารณาค่า % cell viability เทียบกับกลุ่มควบคุม ดังแสดงในตาราง 2 พบว่า สารโครงสร้างที่ 1, 2 และ 3 ในระดับความเข้มข้น 30 μM มีผลทำให้การมีชีวิตของเซลล์ลดลง 84.149±1.66%, 82.903±0.61% และ 85.303±1.81% ตามลำดับ สารโครงสร้างที่ 4 ในความเข้มข้น 20 μM พบว่ามีผลทำให้การมีชีวิตของเซลล์ลดลง 93.971±0.51% ส่วนสารโครงสร้างที่ 5 และ 6 ที่ความเข้มข้น 10 μM พบว่ามีผลทำให้การมีชีวิตของเซลล์ลดลง 89.995±1.39% และ 86.916±0.80% ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ความเป็นพิษของสาร curcuminoids และ analog ในระดับความเข้มข้น 5, 10, 20, 30 และ 40 μM จะเห็นได้ว่าสารแต่ละสารในแต่ละระดับความเข้มข้นมีผล (effect) ต่อการมีชีวิตของเซลล์ (cell viability) ซึ่งพบว่า สารโครงสร้างที่ 5 และ 6 มีความเป็นพิษต่อการมีชีวิตของเซลล์ไตเพาะเลี้ยงมากที่สุด เมื่อเทียบกับสารในโครงสร้างอื่น เนื่องจากพิจารณาในความเข้มข้นของสารโครงสร้างที่ 5 และ 6 จะเห็นได้ว่าตั้งแต่ระดับความเข้มข้น 10 μM มีผลทำให้การมีชีวิตของเซลล์ลดลงต่ำกว่า 95% ซึ่งมีช่วงความปลอดภัยต่อการทดสอบในเซลล์ไตเพาะเลี้ยงที่น้อยจึงไม่เหมาะที่จะนำไปทดสอบ จากการวิเคราะห์สรุปได้ว่าสารที่เหมาะสมในการนำไปใช้ทดสอบ ได้แก่ สาร

curcuminoids โครงสร้างที่ 1, 2 และ 3 ซึ่งเป็นสารต้นแบบ รวมทั้งสารโครงสร้างที่ 4 ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ (analogs) ในการทดสอบ

สำหรับการวิเคราะห์หาความเข้มข้นของสารเพื่อใช้ในการทดสอบ จะเห็นได้ว่าที่ระดับความเข้มข้น 5 μM ของแต่ละโครงสร้างของสาร curcuminoids รวมทั้ง analogs ซึ่งได้แก่ โครงสร้างที่ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 ไม่มีผลต่อการมีชีวิตของเซลล์ไตเพาะเลี้ยง โดยวิเคราะห์ได้จากค่า % cell viability 104.490±0.47%, 103.867±1.32%, 104.013±1.13%, 105.039±0.32%, 100.073±0.42% และ 100.293±0.50% ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ดังนั้นจากผลการทดลองสรุปได้ว่า ความเข้มข้นของสาร curcuminoids ที่เหมาะสมในการนำไปใช้ทดสอบคือ สารที่ความเข้มข้น 5 μM

สำหรับการเตรียมสาร curcuminoids และ analogs ในการทำละลายได้ใช้ Dimethyl sulfoxide (DMSO) เป็นตัวทำละลาย ซึ่งในการทดสอบ solvent control พบว่า DMSO ในความเข้มข้นที่ใช้ไม่มีผลต่อการตายของเซลล์ไตเพาะเลี้ยง

ตาราง 2 ผลการศึกษาความมีชีวิตของเซลล์ด้วยวิธี MTT assay จากเซลล์ไตเพาะเลี้ยงที่ได้รับ curcuminoids และ analogs ที่ระดับความเข้มข้น 5, 10, 20, 30, และ 40 μM เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

โครงสร้าง	ความเข้มข้นของสาร (μM)				
	5	10	20	30	40
1	104.490±0.47	101.558±0.58	95.016±0.65	84.149±1.66	81.565±0.42
2	103.867±1.32	100.770±0.87	95.565±1.63	82.903±0.61	81.125±0.25
3	104.013±1.13	100.055±0.56	96.940±1.20	85.303±1.81	79.329±1.15
4	105.039±0.32	101.942±0.70	93.971±0.51	83.013±0.75	79.989±0.36
5	100.073±0.42	89.995±1.39	85.065±0.45	80.227±1.19	78.889±0.36
6	100.293±0.50	86.916±0.80	81.253±1.00	72.018±0.70	69.764±0.72

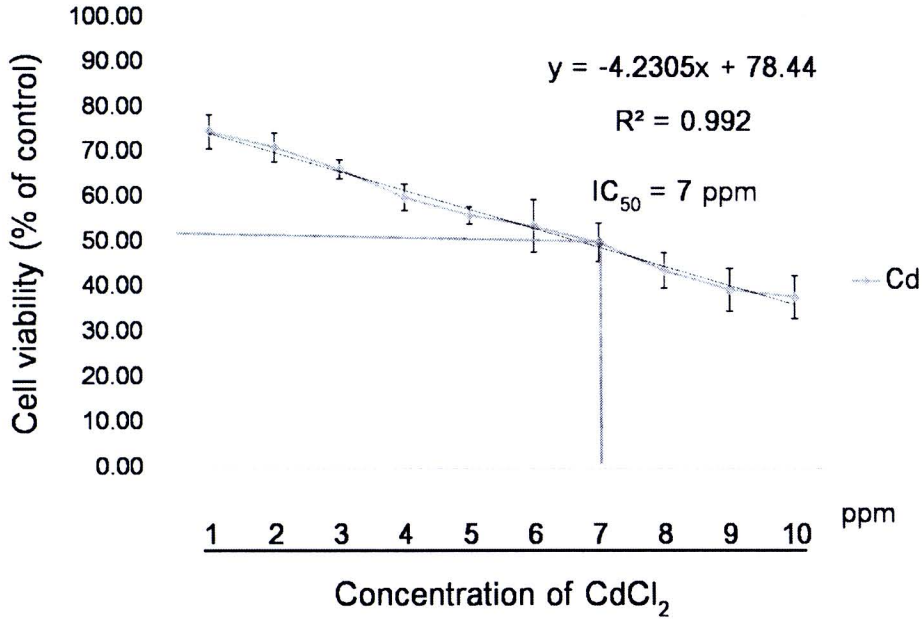
หมายเหตุ : ค่าในตารางแสดงเป็นค่าเฉลี่ย Mean ± S.D., จำนวนการทดลอง 3 ซ้ำ

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

ผลของแคดเมียมต่อเซลล์ไตเพาะเลี้ยง

สำหรับการทดสอบผลของแคดเมียม ($CdCl_2$) ต่อเซลล์ไตเพาะเลี้ยง มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาหาความเข้มข้น (concentration) ของแคดเมียม ในการนำไปใช้ทดสอบต่อการเหนี่ยวนำการตายแบบอะพอพโทซิส โดยทำการทดสอบให้เซลล์ไตเพาะเลี้ยงได้รับแคดเมียมที่ระดับความเข้มข้น 1-10 ppm (parts per million; 1 ส่วนในล้าน) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งจากการวิเคราะห์การมีชีวิตของเซลล์ (% cell viability) ด้วยเทคนิค MTT assay พบว่า ในแต่ละความเข้มข้นของแคดเมียม (1-10 ppm) มีผลทำให้การมีชีวิตของเซลล์ไตเพาะเลี้ยงลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยพบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของแคดเมียม 7 ppm มีผลทำให้การมีชีวิตของเซลล์ลดลงถึง 50% (IC_{50} = inhibitory concentration of 50% growth) ดังแสดงในภาพ 31

จากผลการทดลองอาจสรุปได้ว่า ในแต่ละความเข้มข้นของแคดเมียม ($CdCl_2$) มีผลต่อการมีชีวิตของเซลล์ไตเพาะเลี้ยง เมื่อเซลล์ได้รับแคดเมียมที่ระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้น ส่งผลทำให้การมีชีวิตของเซลล์ลดลงมากขึ้นด้วย ซึ่งค่า IC_{50} ที่ได้ทำให้สามารถเลือกใช้ความเข้มข้นของแคดเมียมต่อการเหนี่ยวนำการตายในเซลล์ไตเพาะเลี้ยง เนื่องจากที่ระดับความเข้มข้นของแคดเมียม 7 ppm มีผลทำให้เกิดการตายของเซลล์ถึง 50 % ในเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งเป็นระดับความเข้มข้นของแคดเมียมที่มีความเป็นพิษสูง อาจส่งผลให้เซลล์ไตเพาะเลี้ยงเกิดการตายแบบเนโครซิสมากกว่าการตายแบบอะพอพโทซิส ด้วยวัตถุประสงค์ในการศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาลักษณะการตายแบบอะพอพโทซิส โดยจะทำการศึกษาเลียนแบบการได้รับแคดเมียมตามลักษณะที่เป็นจริงในการได้รับพิษแคดเมียมตามธรรมชาติ คือ ได้รับแคดเมียมในปริมาณน้อยแล้วค่อยๆสะสมจนทำให้เซลล์ไตเพาะเลี้ยงเกิดการตายแบบอะพอพโทซิส ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงได้เลือกใช้ระดับความเข้มข้นของแคดเมียมที่ต่ำกว่า 7 ppm ซึ่งในการทดลองผลของ curcuminoids และ analogs ต่อเซลล์ไตเพาะเลี้ยงหลังได้รับการเหนี่ยวนำการตายด้วยแคดเมียม พบว่าสาร curcuminoids และ analogs สามารถช่วยเพิ่มการมีชีวิตของเซลล์มากขึ้น ที่ระดับความเข้มข้นของแคดเมียม 2-3 ppm ดังแสดงในภาพ 32-34



ภาพ 31 แสดงผลทดสอบการมีชีวิตของเซลล์ด้วยเทคนิค MTT assay **ของเซลล์ไตเพาะเลี้ยงที่ได้รับแคดเมียมในระดับความเข้มข้น** 1-10 ppm **พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของแคดเมียม** 7 ppm **ทำให้การมีชีวิตของเซลล์ลดลงถึง** 50% (IC_{50} = inhibitory concentration of 50% growth) **(ค่าในกราฟแสดงเป็นค่าเฉลี่ย** Mean±S.D.)

ผลของ curcuminoids และ analogs ต่อเซลล์ไตเพาะเลี้ยงหลังได้รับการเหนี่ยวนำการตายด้วยแคดเมียม

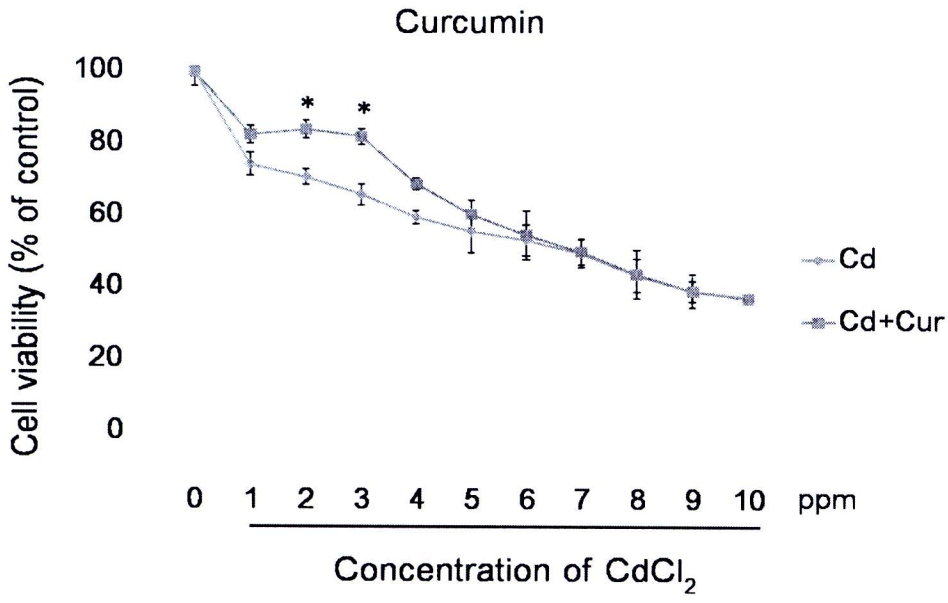
จากผลการวิเคราะห์สาร curcuminoids และ analogs ที่เหมาะสมในการนำมาทดสอบ ได้แก่ สารโครงสร้างที่ 1, 2 และ 3 ซึ่งเป็นสารต้นแบบ และสารโครงสร้างที่ 4 ซึ่งเป็น analog นอกจากนี้ในงานวิจัยของห้องปฏิบัติการ ศ.ดร. อภิชาต สุขสำราญ พบว่า ขมิ้นชันที่พบตามธรรมชาติ มีส่วนผสมของสารประกอบทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ curcumin, demethoxycurcumin และ bisdemethoxycurcumin ในอัตราส่วน 76.0, 20.2 และ 3.8% ตามลำดับ ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้จึงได้สนใจในการทำเลียนแบบสารสกัดขมิ้นชันที่พบในตามธรรมชาติ โดยทดลองผสมสาร curcúminoids (mixture) ของสารโครงสร้างที่ 1, 2 และ 3 ในอัตราส่วน 75:15:10% ตามลำดับ เพื่อนำมาทดสอบในการศึกษาครั้งนี้ด้วย โดยในการทดลองได้ทำการทดสอบผลของสาร curcuminoids สารที่ 1 (curcumin) สารที่ 4 (Mono-*O*-demethylcurcumin) และสารที่เป็น mixture (analogs 1+2+3) ที่ความเข้มข้น 5 μM ในเซลล์ไตเพาะเลี้ยงจากการเหนี่ยวนำการตาย

ด้วยแคดเมียมที่ระดับความเข้มข้น 1-10 ppm เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากผลการทดลองวิเคราะห์ได้ดังนี้

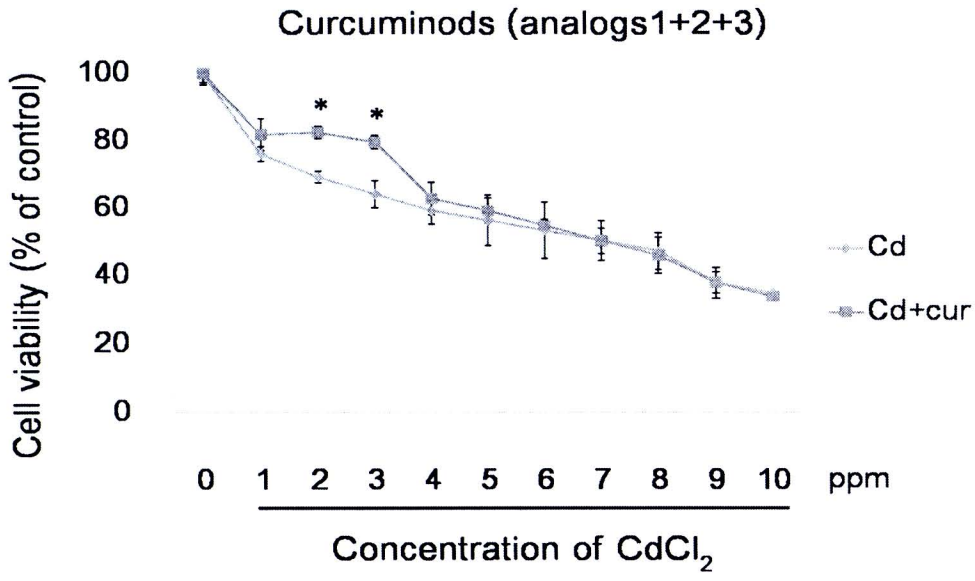
กลุ่มที่ได้รับสารที่ 1 (curcumin) สารที่เป็น mixture (analogs 1+2+3) พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของแคดเมียม 2 และ 3 ppm สามารถช่วยเพิ่มการมีชีวิตของเซลล์ไตเพาะเลี้ยงอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับแคดเมียม สำหรับกลุ่มเซลล์ไตเพาะเลี้ยงที่ได้รับสารที่ 4 (Mono-*O*-demethylcurcumin) พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของแคดเมียม 3 ppm สามารถช่วยเพิ่มการมีชีวิตของเซลล์ไตเพาะเลี้ยงอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับแคดเมียม ดังแสดงในภาพ 32, 33 และ 34 จากการวิเคราะห์ผลการทดสอบจะเห็นได้ว่า ในช่วงระดับความเข้มข้นของแคดเมียมที่สูงขึ้น (5-10 ppm) พบว่า กลุ่มที่ได้รับสารที่ 1 (curcumin) สารที่เป็น mixture (analogs 1+2+3) และสารที่ 4 (Mono-*O*-demethylcurcumin) ไม่สามารถช่วยต้านการตายของเซลล์ได้ แต่ที่ระดับความเข้มข้นต่ำกว่า 5 ppm (1-4 ppm) พบว่า สาร curcuminoids และ analogs สามารถช่วยเพิ่มการมีชีวิตของเซลล์มากขึ้น ซึ่งพบว่าสาร curcuminoids และ analogs นี้สามารถช่วยเพิ่มการมีชีวิตของเซลล์ได้ดีที่สุดที่ระดับความเข้มข้นของแคดเมียม 2-3 ppm ดังนั้นสรุปผลการทดลองได้ว่าสารที่ 1 (curcumin) สารที่เป็น mixture (analogs 1+2+3) และสารที่ 4 (Mono-*O*-demethylcurcumin) มีผลช่วยในการต้านตายของเซลล์ไตเพาะเลี้ยงหลังได้รับแคดเมียมที่ระดับความเข้มข้น 3 ppm

นอกจากนี้ยังได้ทำการการศึกษาผลของสาร curcuminoids และ analogs ในระดับความเข้มข้นที่ 2.5 และ 5 μM ต่อการต้านการตายของเซลล์ไตเพาะเลี้ยงจากการเหนี่ยวนำการตายด้วยแคดเมียมความเข้มข้นที่ 3 ppm ในการทดลองได้ทำการทดสอบกลุ่มสาร curcuminoids ต้นแบบซึ่งได้แก่ สารที่ 1 สารที่ 2 และสารที่ 3 นอกจากนี้ยังทดสอบกลุ่มสารที่เป็น mixture (analogs 1+2+3) และสารที่ 4 (mono-*O*-demethylcurcumin) ที่เป็นสารสังเคราะห์ (analog) จากผลการทดลองพบว่า กลุ่มเซลล์ไตเพาะเลี้ยงที่ได้รับสารที่ 1 (curcumin) และ สารที่ 2 (demethoxycurcumin) ที่ความเข้มข้น 2.5 และ 5 μM มีผลทำให้การมีชีวิตของเซลล์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) เมื่อเทียบกลุ่มเซลล์ไตเพาะเลี้ยงที่ได้รับแคดเมียม ส่วนกลุ่มที่ได้รับสารที่ 3 (bisdemethoxycurcumin) ที่ความเข้มข้น 5 μM มีผลทำให้การมีชีวิตของเซลล์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) และกลุ่มที่ได้รับสารที่ 4 (mono-*O*-demethylcurcumin) ที่ความเข้มข้น 2.5 μM มีผลทำให้การมีชีวิตของเซลล์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) เมื่อเทียบกลุ่มเซลล์ไตเพาะเลี้ยงที่ได้รับแคดเมียม ซึ่งในกลุ่มที่ได้สารที่เป็น mixture (analogs 1+2+3) พบว่า มีผลทำให้

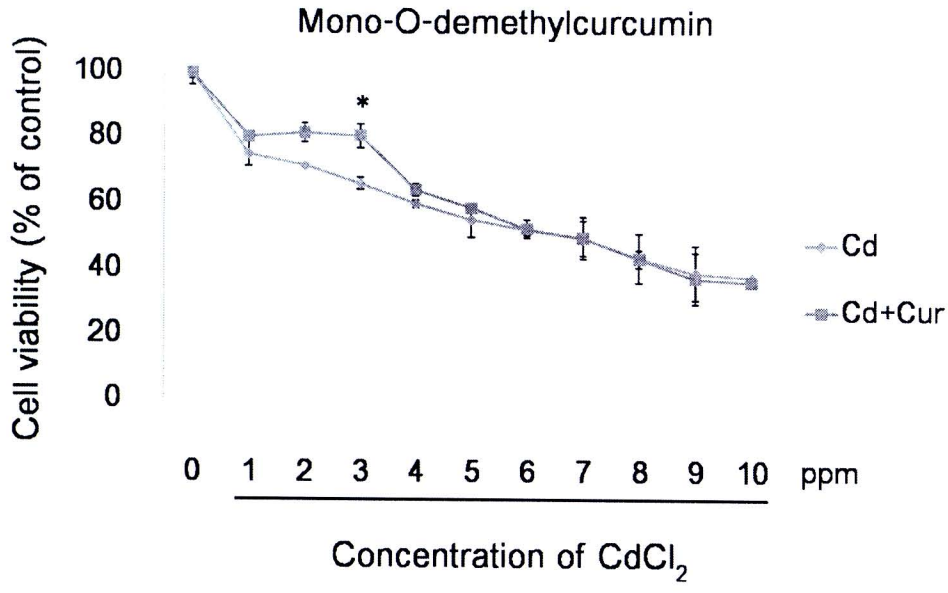
การมีชีวิตของเซลล์เพิ่มขึ้นแต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) เมื่อเทียบกลุ่มเซลล์ไตเพาะเลี้ยงที่ได้รับแคดเมียม ดังแสดงในภาพ 35 จากผลการทดลองอาจสรุปได้ว่าสาร curcuminoids และ analogs ที่นำมาทดสอบมีผลในการช่วยต้านการตายของเซลล์ไตเพาะเลี้ยงหลังจากได้รับการเหนี่ยวนำด้วยแคดเมียมซึ่งพบว่าสารที่ 1 (curcumin) สารที่ 2 (demethoxycurcumin) สารที่ 3 (bisdemethoxycurcumin) และสารที่ 4 (mono-*O*-demethylcurcumin) มีผลในการช่วยต้านการตายได้ดีกว่าสารที่เป็น mixture (analogs 1+2+3)



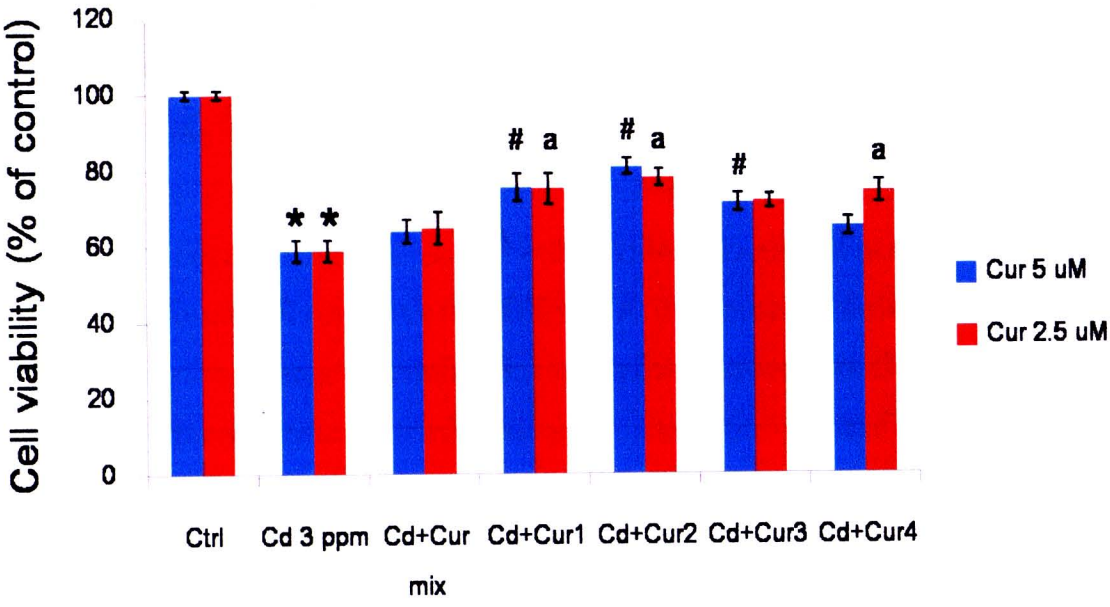
ภาพ 32 ผลการทดสอบการมีชีวิตของเซลล์ด้วยเทคนิค MTT assay **ของเซลล์ไตเพาะเลี้ยงที่ได้รับสารที่** 1 (curcumin) **ความเข้มข้น** 5 μM **ต่อระดับความเข้มข้นของแคดเมียม** 1-10 ppm **เป็นเวลา** 24 **ชั่วโมง พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของแคดเมียม** 2 **และ** 3 ppm **สามารถช่วยเพิ่มการมีชีวิตของเซลล์ไตเพาะเลี้ยงอย่างมีนัยสำคัญ** (*$p<0.05$ **เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับแคดเมียม) (ค่าในกราฟแสดงเป็นค่าเฉลี่ย** Mean ± S.D.)



ภาพ 33 ผลการทดสอบการมีชีวิตของเซลล์ด้วยเทคนิค MTT assay ของเซลล์ไตเพาะเลี้ยงที่ได้รับสาร curcuminoids (mixture) ความเข้มข้น 5 μM ต่อระดับความเข้มข้นของแคดเมียม 1-10 ppm เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของแคดเมียม 2 และ 3 ppm สามารถช่วยเพิ่มการมีชีวิตของเซลล์ไตเพาะเลี้ยงอย่างมีนัยสำคัญ (*p<0.05 เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับแคดเมียม) (ค่าในกราฟแสดงเป็นค่าเฉลี่ย Mean ± S.D.)



ภาพ 34 ผลการทดสอบการมีชีวิตของเซลล์ด้วยเทคนิค MTT assay ของเซลล์ไตเพาะเลี้ยงที่ได้รับสารที่ 4 (mono-*O*-demethylcurcumin) ความเข้มข้น 5 μM ต่อระดับความเข้มข้นของแคดเมียม 1-10 ppm เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของแคดเมียม 3 ppm สามารถช่วยเพิ่มการมีชีวิตของเซลล์ไตเพาะเลี้ยงอย่างมีนัยสำคัญ (*$p<0.05$ เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับแคดเมียม) (ค่าในกราฟแสดงเป็นค่าเฉลี่ย Mean $\pm$ S.D.)

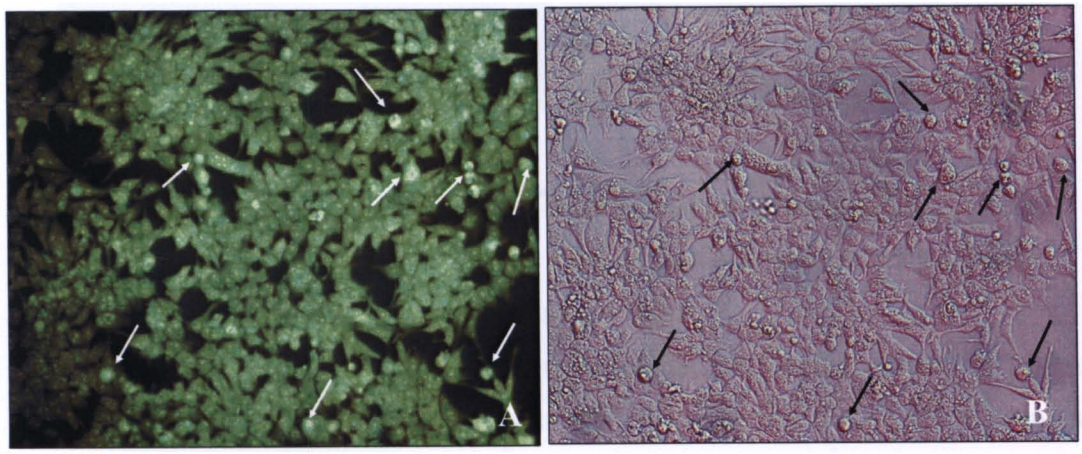


ภาพ 35 ผลการทดสอบการมีชีวิตของเซลล์ด้วยเทคนิค MTT assay **ของเซลล์ไตเพาะเลี้ยงหลังได้รับ** curcuminoids **และ** analogs **ในความเข้มข้น** 2.5 **และ** 5 μM **ต่อระดับความเข้มข้นของแคดเมียม** 3 ppm **เป็นเวลา** 24 **ชั่วโมง พบว่าสารที่** 1 (curcumin) **สารที่** 2 (demethoxycurcumin) **สารที่** 3 (bisdemethoxycurcumin) **และสารที่** 4 (mono-*O*-demethylcurcumin) **มีผลในการช่วยต้านการตายได้ดีกว่าสารที่เป็น** mixture (analogs 1+2+3) **(กราฟแต่ละแท่งแสดงเป็นค่าเฉลี่ย** Mean ± S.D.) ($^{*}p< 0.05$ **เทียบกลุ่มควบคุม** $^{\#}p<0.05$ **เทียบกลุ่มที่ได้รับแคดเมียม** $^{a}p<0.05$ **เทียบกลุ่มที่ได้รับแคดเมียม)**

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

ผลของแคดเมียมต่อการเปลี่ยนแปลงทางด้าน morphology **ของเซลล์ไตเพาะเลี้ยง**

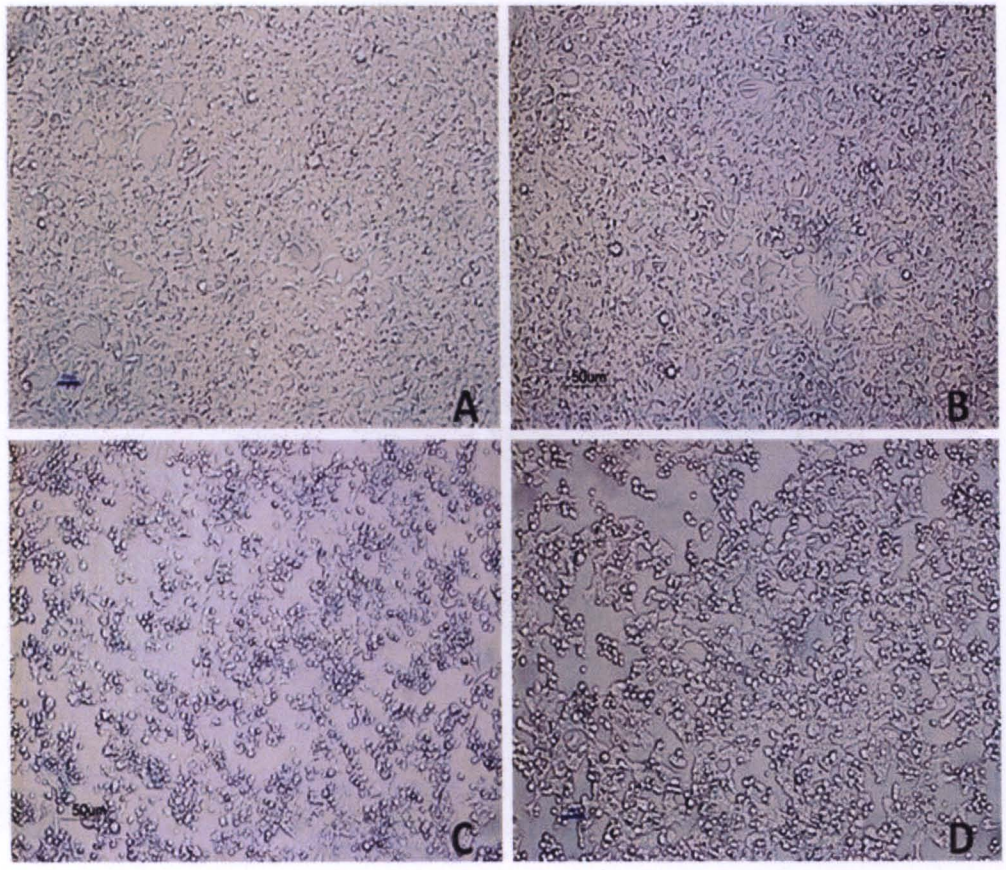
สำหรับการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางด้าน morphology เพื่อทดสอบลักษณะการตายของเซลล์ไตเพาะเลี้ยงแบบอะพอพโทซิส โดยการย้อมสีลงในเซลล์ไตเพาะเลี้ยงด้วย propidium iodide และ acridine orange ซึ่ง propidium iodide เป็นสีที่สามารถเข้าไปในนิวเคลียสของเซลล์ไม่มีชีวิต ดังนั้นเมื่อย้อมด้วย propidium iodide จึงเกิดการติดสีที่นิวเคลียส ส่วน acridine orange เป็นสีที่สามารถย้อมติดที่นิวเคลียสของเซลล์ที่มีชีวิต ดังนั้นเมื่อเซลล์ถูกย้อมด้วย propidium iodide และ acridine orange พบเซลล์มีรูปร่างกลมติดสีฟลูออเรสเซนส์สองสีซ้อนทับกันอย่างเด่นชัด ซึ่งเป็นการแสดงลักษณะของการเกิด nuclear condensation ของเซลล์ไตเพาะเลี้ยงหลังถูกเหนี่ยวนำการตายด้วยแคดเมียม และหากเมื่อนำเซลล์ที่ย้อมไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่า ตำแหน่งที่เกิดลักษณะ nuclear condensation เซลล์มีลักษณะหดตัวเล็กลง และกลม ดังแสดงในภาพ 36 จากผลการทดลองอาจสรุปได้ว่า แคดเมียม ($CdCl_2$) มีผลทำให้เซลล์ไตเพาะเลี้ยงเกิดการตายแบบอะพอพโทซิส



ภาพ 36 **แสดงลักษณะการเกิด** nuclear condensation **(ตามลูกศรชี้) ของเซลล์ไตเพาะเลี้ยงบนจานเพาะเลี้ยง หลังได้รับแคดเมียม** 3 ppm **เป็นเวลา** 24 **ชั่วโมง**

A = **เซลล์ไตเพาะเลี้ยง ภายใต้กล้องฟลูออเรสเซนส์**

B = **เซลล์ไตเพาะเลี้ยง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์** (Phase-contrast)



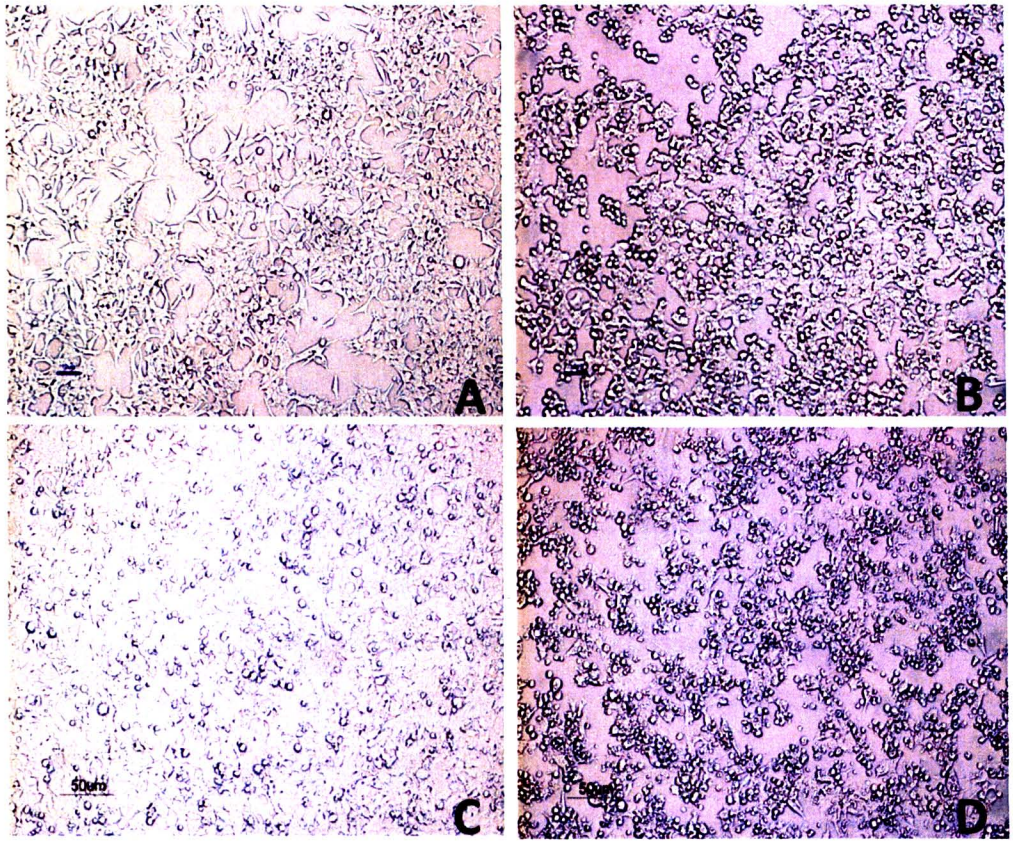
ภาพ 37 **แสดงลักษณะของเซลล์ไตเพาะเลี้ยงบนจานเพาะเลี้ยง**
ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ หลังได้รับแคดเมียมเป็นเวลา 24 **ชั่วโมง**

A = **เซลล์ไตเพาะเลี้ยงกลุ่มควบคุม**

B = **เซลล์ไตเพาะเลี้ยงกลุ่มที่ได้รับแคดเมียมที่ความเข้มข้น** 1 ppm

C = **เซลล์ไตเพาะเลี้ยงกลุ่มที่ได้รับแคดเมียมที่ความเข้มข้น** 2 ppm

D = **เซลล์ไตเพาะเลี้ยงกลุ่มที่ได้รับแคดเมียมที่ความเข้มข้น** 3 ppm



ภาพ 38 **แสดงลักษณะของเซลล์ไตเพาะเลี้ยงบนจานเพาะเลี้ยง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ หลังได้รับสาร** curcuminoids **ร่วมกับแคดเมียม เป็นเวลา** 24 **ชั่วโมง**

A = **เซลล์ไตเพาะเลี้ยงกลุ่ม** control

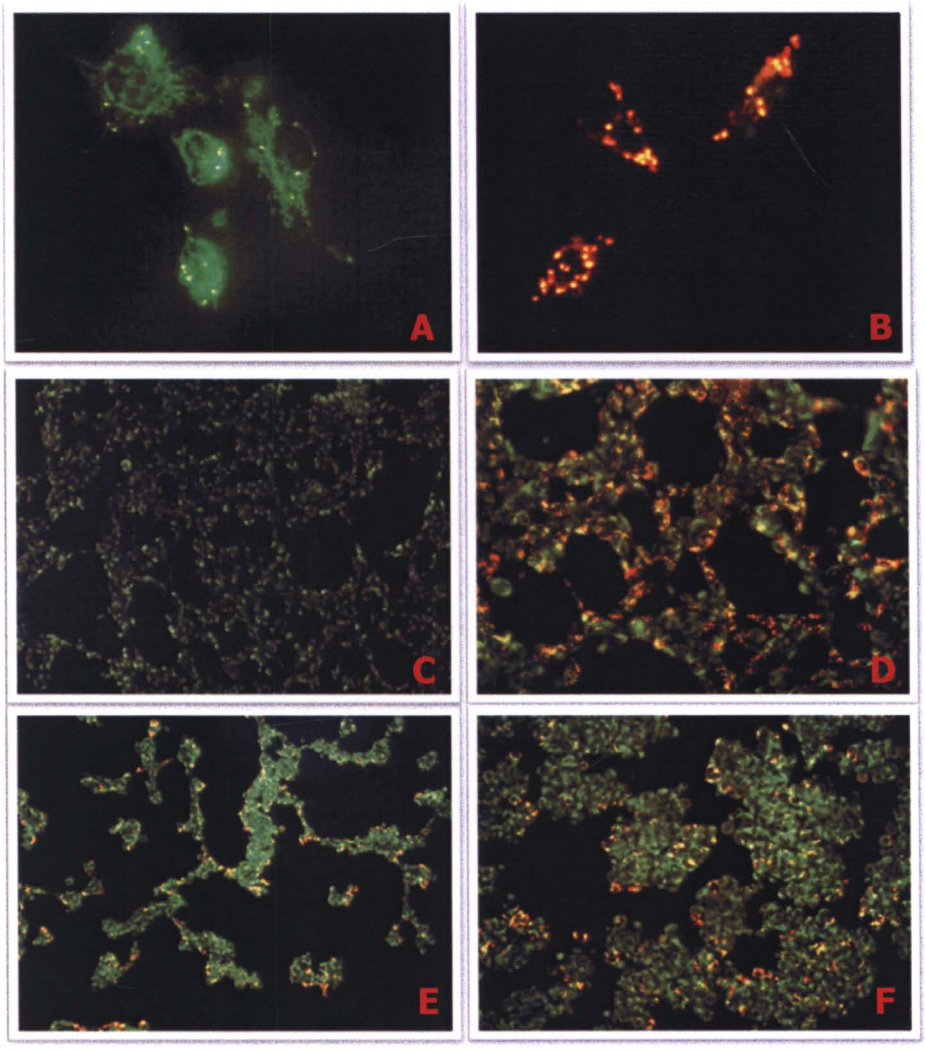
B = **เซลล์ไตเพาะเลี้ยงกลุ่มที่ได้รับแคดเมียมที่ความเข้มข้น** 3 ppm

C = **เซลล์ไตเพาะเลี้ยงกลุ่มที่ได้รับสารที่** 1 (curcumin) **ความเข้มข้น** 5 μM

D = **เซลล์ไตเพาะเลี้ยงกลุ่มที่ได้รับสารที่** 1 (curcumin) **ความเข้มข้น** 5 μM **ร่วมกับแคดเมียมที่ความเข้มข้น** 3 ppm

ผลของแคดเมียมต่อการเปลี่ยนแปลง mitochondrial membrane potential (MMP) ของเซลล์ไตเพาะเลี้ยง

ในการศึกษาผลของแคดเมียมต่อการเปลี่ยนแปลง mitochondrial membrane potential ของเซลล์ไตเพาะเลี้ยง เพื่อทดสอบลักษณะการตายแบบอะพอพโทซิสโดยมี mitochondria เป็นศูนย์กลางสำคัญ ทำการทดลองโดยนำกลุ่มเซลล์ไตเพาะเลี้ยงที่ได้รับแคดเมียม 3 ppm เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการย้อมด้วยสี JC-1 ด้วยเทคนิค JC-1 Assay Kit โดยคุณสมบัติของสี JC-1 (5,5',6,6'-tetrachloro-1,1',3,3'-tetraethylbenzimidazolcarbocyanineiodide) สามารถเข้าไปใน mitochondrial matrix ของเซลล์ที่มีชีวิต ซึ่งมีค่าต่างศักย์ระหว่างชั้นเยื่อหุ้มของ mitochondria (mitochondrial membrane potential; MMP) ที่สูงทำให้สี JC-1 ที่อยู่ใน mitochondrial matrix เกิดการเกาะกลุ่มเปลี่ยนสีเป็นสีแดงส้ม ดังนั้นเมื่อนำเซลล์ไตเพาะเลี้ยงกลุ่มควบคุมไปย้อมสี JC-1 จึงพบสี JC-1 เป็นสีแดงส้มสะสมอยู่ใน mitochondrial matrix ดังแสดงในภาพ 39 (B, D) ในการทดลองได้ทดสอบกลุ่มเซลล์ไตเพาะเลี้ยง (positive control) ที่ได้รับสาร CCCP (carbonyl cyanide 3-chlorophenylhydrazone) เป็นสารที่ไปรบกวนต่อค่าต่างศักย์ (MMP) โดยตรง จากผลการทดลอง ในกลุ่มเซลล์ไตเพาะเลี้ยงที่ได้รับสาร CCCP พบว่า สี JC-1 ติดอยู่บนผิวของ mitochondria และคั่งอยู่ใน cytoplasm แสดงสีเป็นสีเขียว เนื่องจากเป็นกลุ่มเซลล์ที่มีการรบกวนของค่าต่างศักย์ (MMP) สี JC-1 จึงไม่สามารถเข้าสู่ mitochondrial matrix ได้ ดังแสดงในภาพ 39 (A, C) ซึ่งในกลุ่มเซลล์ไตเพาะเลี้ยงที่ได้รับแคดเมียม 3 ppm พบว่า สี JC-1 ติดอยู่บนผิวของ mitochondria และคั่งอยู่ใน cytoplasm แสดงสีเป็นสีเขียว และพบเป็นสีแดงส้มที่สะสมอยู่ใน mitochondrial matrix ปะปนเล็กน้อย ดังแสดงในภาพ 39 (E, F) จากผลการทดลองอาจสรุปได้ว่าแคดเมียม ($CdCl_2$) มีผลทำให้เซลล์ไตเพาะเลี้ยงเกิดการตายแบบอะพอพโทซิสโดยมี mitochondria เป็นศูนย์กลางสำคัญ



ภาพ 39 **แสดงการเปลี่ยนแปลงของ** mitochondrial membrane potential (MMP) **ในเซลล์ไตเพาะเลี้ยงหลังได้รับแคดเมียมที่ความเข้มข้น** 3 ppm **เป็นเวลา** 24 **ชั่วโมง ด้วยการย้อมสี** JC-1 **ภายใต้กล้องฟลูออเรสเซนส์**

A = **เซลล์ไตเพาะเลี้ยงที่กลุ่ม** positive control (**ภาพกำลังขยายสูง**)

B = **เซลล์ไตเพาะเลี้ยงที่กลุ่มควบคุม (ภาพกำลังขยายสูง)**

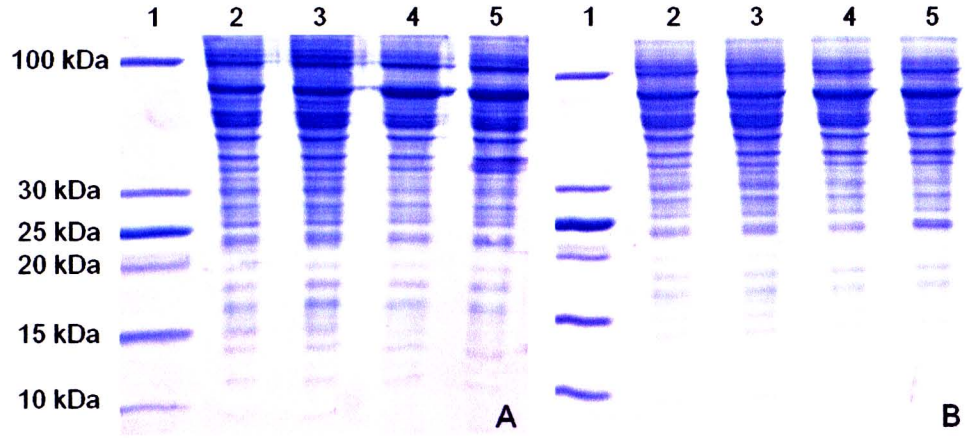
C = **เซลล์ไตเพาะเลี้ยงที่กลุ่ม** positive control (**ภาพกำลังขยายต่ำ**)

D = **เซลล์ไตเพาะเลี้ยงที่กลุ่มควบคุม (ภาพกำลังขยายต่ำ)**

E **และ** F = **เซลล์ไตเพาะเลี้ยงที่ได้รับแคดเมียมความเข้มข้น** 3 ppm

ผลของแคดเมียม และ curcuminoids รวมทั้ง analogs ต่อระดับโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการตายแบบอะพอพโทซิสในเซลล์ไตเพาะเลี้ยง

สำหรับการศึกษาโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการตายแบบอะพอพโทซิส ในเซลล์ไตเพาะเลี้ยง ซึ่งทำการทดสอบผลของสาร curcuminoids ได้แก่ สารที่ 1 (curcumin) สารที่เป็น mixture (analogs 1+2+3) และสารที่ 4 (Mono-*O*-demethylcurcumin) โดยในการศึกษาครั้งนี้จะทำการตรวจหาปริมาณโปรตีน Bax, Bcl-2 ทั้งใน cytosol และ mitochondria ในการทดลองจะทำการแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็นทั้งหมด 4 กลุ่ม คือ กลุ่มเซลล์ไตเพาะเลี้ยงที่ไม่ได้รับสารใดๆ (กลุ่มควบคุม) กลุ่มเซลล์ไตเพาะเลี้ยงที่ได้รับแคดเมียมความเข้มข้น 3 ppm กลุ่มเซลล์ไตเพาะเลี้ยงที่ได้รับสาร curcuminoids ได้แก่ สารที่ 1 (curcumin) สารที่เป็น mixture (analogs 1+2+3) และสารที่ 4 (Mono-*O*-demethylcurcumin) ตามลำดับ และกลุ่มที่ได้รับสาร curcuminoids ได้แก่ สารที่ 1 (curcumin) สารที่เป็น mixture (analogs 1+2+3) และสารที่ 4 (Mono-*O*-demethylcurcumin) ร่วมกับแคดเมียมที่ความเข้มข้น 3 ppm ซึ่งการทดสอบนี้ใช้เทคนิค western blot analysis เพื่อตรวจหาปริมาณโปรตีนที่ต้องการศึกษา ซึ่งจากผลการทดลองได้แสดงผลการสกัดแยกโปรตีนใน cytosol และ mitochondria ดังแสดงในภาพ 40 โดยผลการทดลองทั้งหมดจะทดลองผล 3 ซ้ำ ซึ่งได้นำไปวิเคราะห์ผลหาค่าเฉลี่ย และหาค่าความแตกต่างทางสถิติ

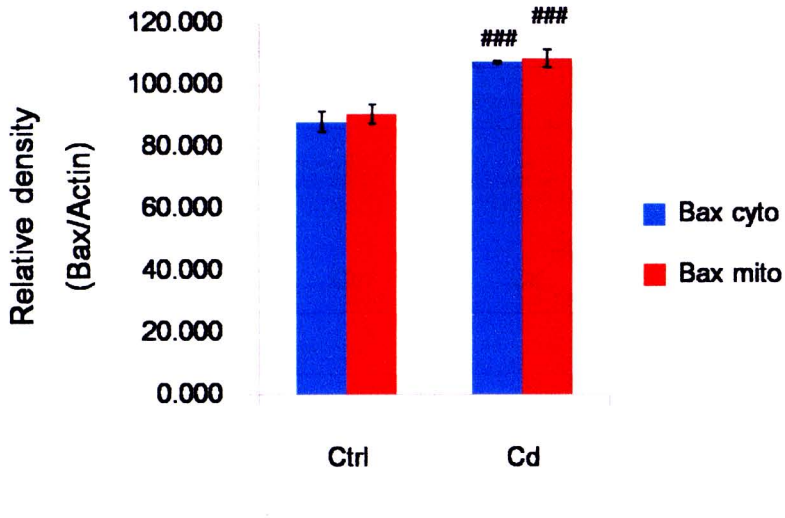


ภาพ 40 แสดงขนาด และชนิดโปรตีนใน cytosol **และ** mitochondria **บน** SDS-PAGE Gels **ที่ได้จากการสกัดในเซลล์ไตเพาะเลี้ยง**
ภาพ A = **โปรตีนใน** cytosol **ปริมาณ** 12 **ไมโครกรัม**
ภาพ B = **โปรตีนใน** mitochondria **ปริมาณ** 12 **ไมโครกรัม**
Lane 1 = Protein ladder
Lane 2 = **กลุ่มควบคุม**
Lane 3 = **กลุ่มที่ได้รับแคดเมียม** ($CdCl_2$)
Lane 4 = **กลุ่มที่ได้รับ** curcuminoids **หรือ** analogs
Lane 5 = **กลุ่มที่ได้รับ** curcuminoids **หรือ** analogs **ร่วมกับแคดเมียม**

การวิเคราะห์ผลของแคดเมียม ($CdCl_2$) ต่อค่าเฉลี่ยการแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการตายแบบอะพอพโทซิสในเซลล์ไตเพาะเลี้ยง

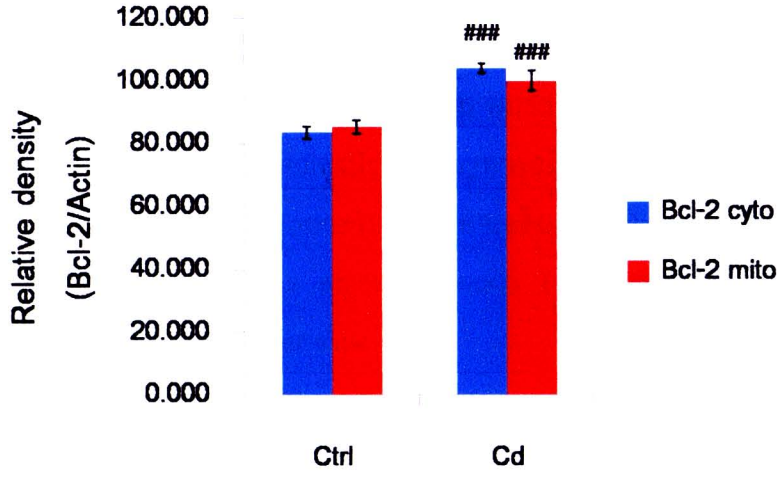
สำหรับการวิเคราะห์ผลของแคดเมียม ($CdCl_2$) ต่อค่าเฉลี่ยการแสดงออกของโปรตีน Bax และ Bcl-2 ซึ่งในการทดสอบจะมีกลุ่มเซลล์ไตเพาะเลี้ยงที่ได้รับแคดเมียมความเข้มข้น 3 ppm ของแต่ละการทดสอบทั้งหมด 3 ชุดการทดสอบ ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของโปรตีน Bax ในกลุ่มที่ได้รับแคดเมียมของแต่ละการทดสอบ พบว่า มีการแสดงออกของโปรตีน Bax ทั้งใน cytosol และ mitochondria เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.001$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ดังแสดงในภาพ 41 จากผลการทดลองอาจสรุปได้ว่าความเป็นพิษของแคดเมียม ($CdCl_2$) มีผลต่อการทำงาน

ของโปรตีน Bax ทั้งใน cytosol และ mitochondria เพื่อกระตุ้นให้เกิดการเหนี่ยวการตายของเซลล์ไตเพาะเลี้ยงให้เกิดกระบวนการตายแบบอะพอพโทซิส



ภาพ 41 แสดงกราฟการวิเคราะห์ผลของแคดเมียม ($CdCl_2$) ต่อค่าเฉลี่ยการแสดงออกของโปรตีน Bax ใน cytosol และ mitochondria พบว่าแคดเมียมมีผลต่อการแสดงออกของโปรตีน Bax ทั้งใน cytosol และ mitochondria เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($^{###}p<0.001$ เทียบกับกลุ่มควบคุม) (กราฟแต่ละแท่งแสดงค่าเฉลี่ย Mean ± S.D.)

ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของโปรตีน Bcl-2 ในกลุ่มที่ได้รับแคดเมียมของแต่ละการทดสอบ พบว่า มีการแสดงออกของโปรตีน Bcl-2 ทั้งใน cytosol และ mitochondria เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.001$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ดังแสดงในภาพ 42 จากผลการทดลองอาจสรุปได้ว่าแคดเมียม ($CdCl_2$) มีผลต่อการแสดงออกของโปรตีน Bcl-2 ทั้งใน cytosol และ mitochondria เพื่อป้องกันการตายของเซลล์จากการเหนี่ยวนำการตายด้วยแคดเมียม



ภาพ 42 แสดงกราฟการวิเคราะห์ผลของแคดเมียม ($CdCl_2$) ต่อค่าเฉลี่ยการแสดงออกของโปรตีน Bcl-2 ใน cytosol และ mitochondria พบว่าแคดเมียมมีผลต่อการแสดงออกของโปรตีน Bcl-2 ทั้งใน cytosol และ mitochondria เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($^{###}p<0.001$ เทียบกับกลุ่มควบคุม) (กราฟแต่ละแท่งแสดงค่าเฉลี่ย Mean ± S.D.)

การวิเคราะห์ผลของ curcuminoids และ analogs ต่อค่าเฉลี่ยการแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการตายแบบอะพอพโทซิสในเซลล์ไตเพาะเลี้ยง

สำหรับการวิเคราะห์ผลของ curcuminoids และ analogs ต่อค่าเฉลี่ยการแสดงออกของโปรตีน Bax และ Bcl-2 ซึ่งในการทดสอบจะมีกลุ่มเซลล์ไตเพาะเลี้ยงที่ได้รับสารที่ 1 (curcumin) สารที่เป็น mixture (analogs 1+2+3) และสารที่ 4 (mono-*O*-demethylcurcumin) ในความเข้มข้น 5 μM ของแต่ละการทดสอบ ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของโปรตีน Bax และ Bcl-2 วิเคราะห์ได้ดังนี้

กลุ่มที่ได้รับสารที่ 1 (curcumin) พบว่า มีการแสดงออกของโปรตีน Bax ใน cytosol เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม สำหรับผลการแสดงออกของโปรตีน Bax ใน mitochondria พบว่า มีการแสดงออกของโปรตีน Bax แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ดังแสดงในภาพ 43 สำหรับผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของโปรตีน Bcl-2 พบว่า มีการแสดงออกของโปรตีน Bcl-2 ใน cytosol และ

mitochondria เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.001$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ดังแสดงในภาพ 44

กลุ่มที่ได้รับสารที่เป็น mixture (analogs 1+2+3) พบว่า มีการแสดงออกของโปรตีน Bax ใน cytosol และ mitochondria เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ดังแสดงในภาพ 45 สำหรับผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของโปรตีน Bcl-2 พบว่า มีการแสดงออกของโปรตีน Bcl-2 ใน cytosol แ ละ mitochondria เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.001$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ดังแสดงในภาพ 46

กลุ่มที่ได้รับสารที่ 4 (mono-*O*-demethylcurcumin) พบว่า มีการแสดงออกของโปรตีน Bax ใน cytosol และ mitochondria เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.001$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ดังแสดงในภาพ 47 สำหรับผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของโปรตีน Bcl-2 พบว่า มีการแสดงออกของโปรตีน Bcl-2 ใน cytosol และ mitochondria เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.001$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ดังแสดงในภาพ 48

การวิเคราะห์ผลของ Curcuminoids และ analogs ต่อค่าเฉลี่ยการแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการตายแบบอะพอพโทซิสในเซลล์ไตเพาะเลี้ยงหลังได้รับการเหนี่ยวนำการตายด้วยแคดเมียม ($CdCl_2$)

สำหรับการวิเคราะห์ผลของ curcuminoids และ analogs ต่อค่าเฉลี่ยการแสดงออกของโปรตีน Bax และ Bcl-2 ซึ่งการทดสอบจะมีกลุ่มเซลล์ไตเพาะเลี้ยงที่ได้รับสารที่ 1 (curcumin) สารที่เป็น mixture (analogs 1+2+3) และสารที่ 4 (mono-*O*-demethylcurcumin) ความเข้มข้น 5 µM ร่วมกับแคดเมียมที่ความเข้มข้น 3 ppm ของแต่ละการทดสอบ ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของโปรตีน Bax และ Bcl-2 วิเคราะห์ได้ดังนี้

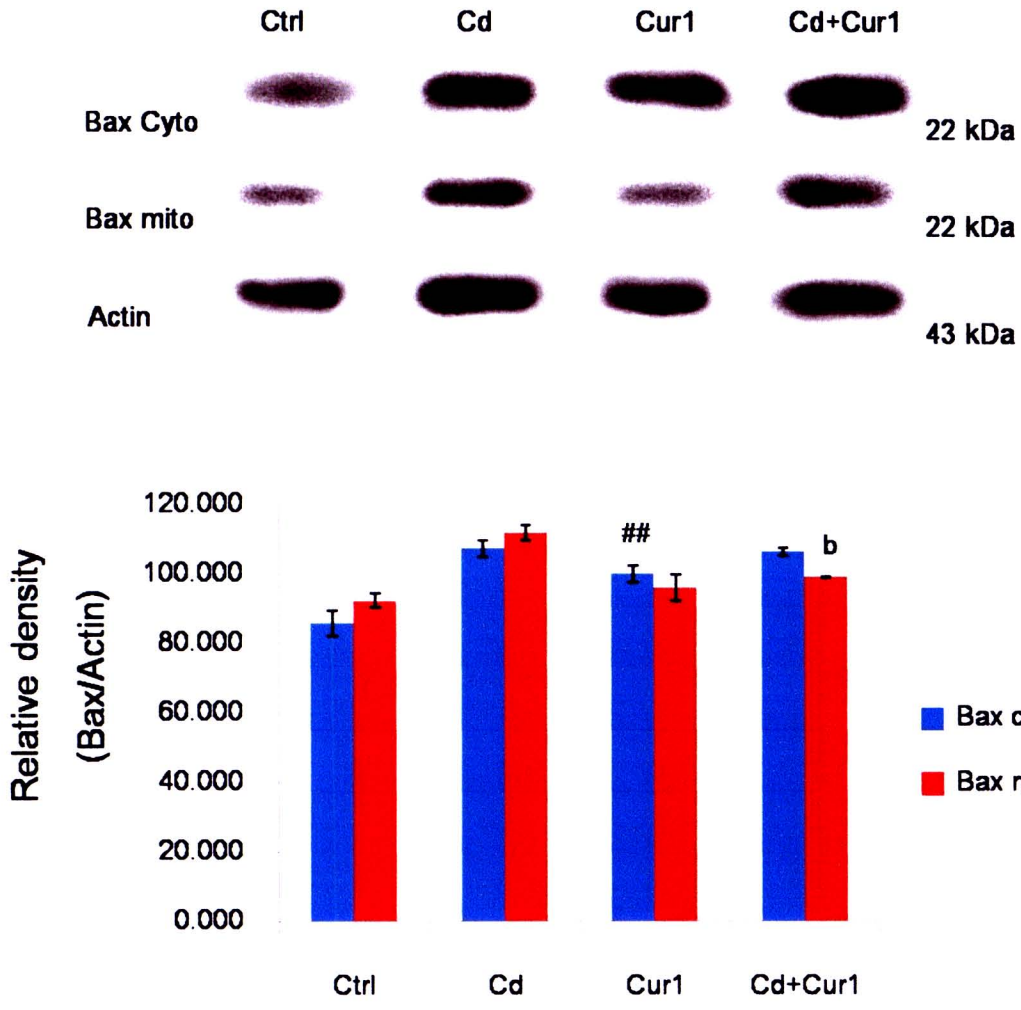
กลุ่มที่ได้รับสารที่ 1 (curcumin) ร่วมกับแคดเมียม พบว่า มีการแสดงออกของโปรตีน Bax ใน cytosol เพิ่มขึ้นแต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับแคดเมียม สำหรับผลการแสดงออกของโปรตีน Bax ใน mitochondria พบว่า มีการแสดงออกของโปรตีน Bax ใน mitochondria ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับแคดเมียม ดังแสดงในภาพ 43 สำหรับผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของโปรตีน Bcl-2 พบว่า มีการแสดงออกของโปรตีน Bcl-2 ใน cytosol และ mitochondria เพิ่มขึ้นแต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับแคดเมียม ดังแสดงในภาพ 44

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

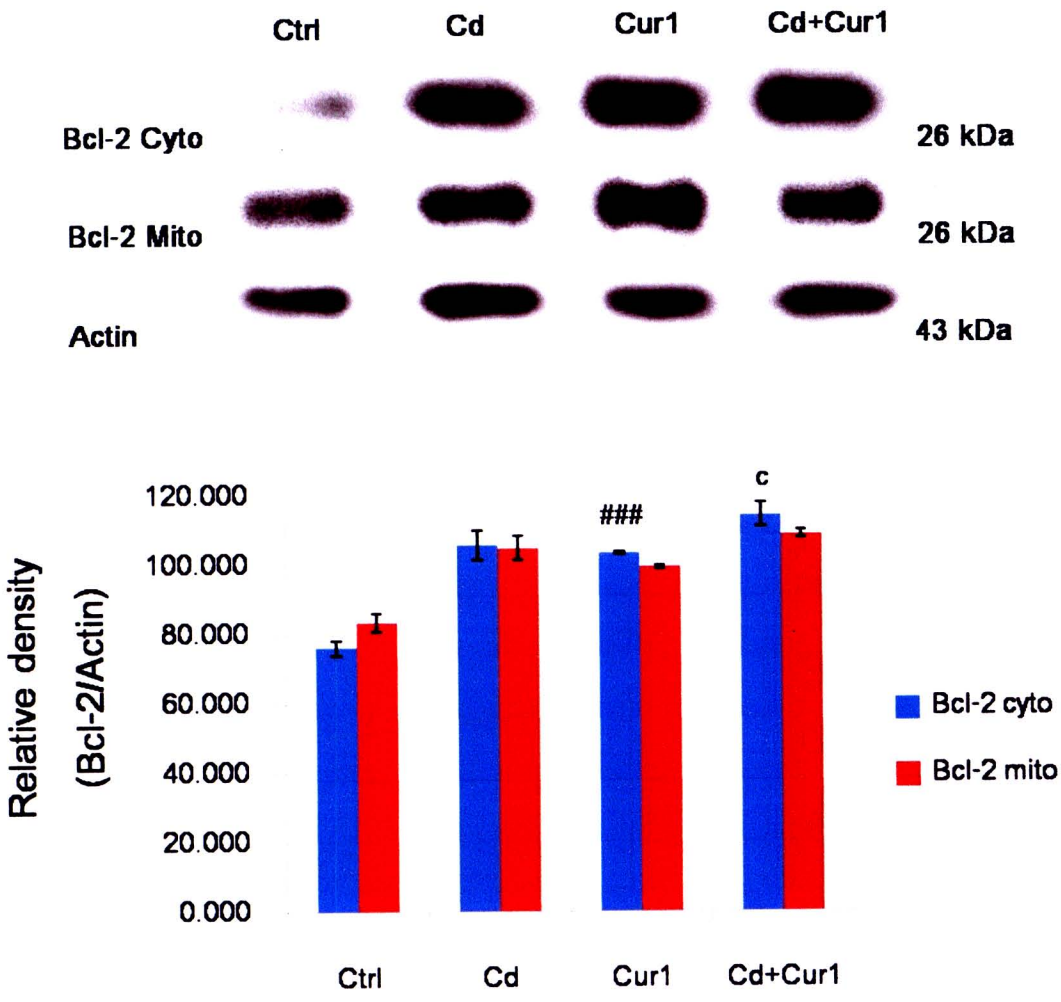
กลุ่มที่ได้รับสารที่เป็น mixture (analogs 1+2+3) ร่วมกับแคดเมียม พบว่า มีการแสดงออกของโปรตีน Bax ใน cytosol เพิ่มขึ้นแต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มเซลล์ไตเพาะเลี้ยงที่ได้รับแคดเมียม สำหรับผลการแสดงออกของโปรตีน Bax ใน mitochondria พบว่า มีการแสดงออกของโปรตีน Bax ใน mitochondria ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับแคดเมียม ดังแสดงในภาพ 45 สำหรับผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของโปรตีน Bcl-2 พบว่า การแสดงออกของโปรตีน Bcl-2 ใน cytosol และ mitochondria เพิ่มขึ้นแต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับแคดเมียม ดังแสดงในภาพ 46

กลุ่มที่ได้รับสารที่ 4 (mono-*O*-demethylcurcumin) ร่วมกับแคดเมียม พบว่า มีการแสดงออกของโปรตีน Bax ใน cytosol และ mitochondria เพิ่มขึ้นแต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับแคดเมียม ดังแสดงในภาพ 47 สำหรับผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของโปรตีน Bcl-2 พบว่า การแสดงออกของโปรตีน Bcl-2 ใน cytosol เพิ่มขึ้นแต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับแคดเมียม สำหรับผลการแสดงออกของโปรตีน Bcl-2 ใน mitochondria พบว่า มีการแสดงออกของโปรตีน Bcl-2 เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.001$) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับแคดเมียม ดังแสดงในภาพ 48

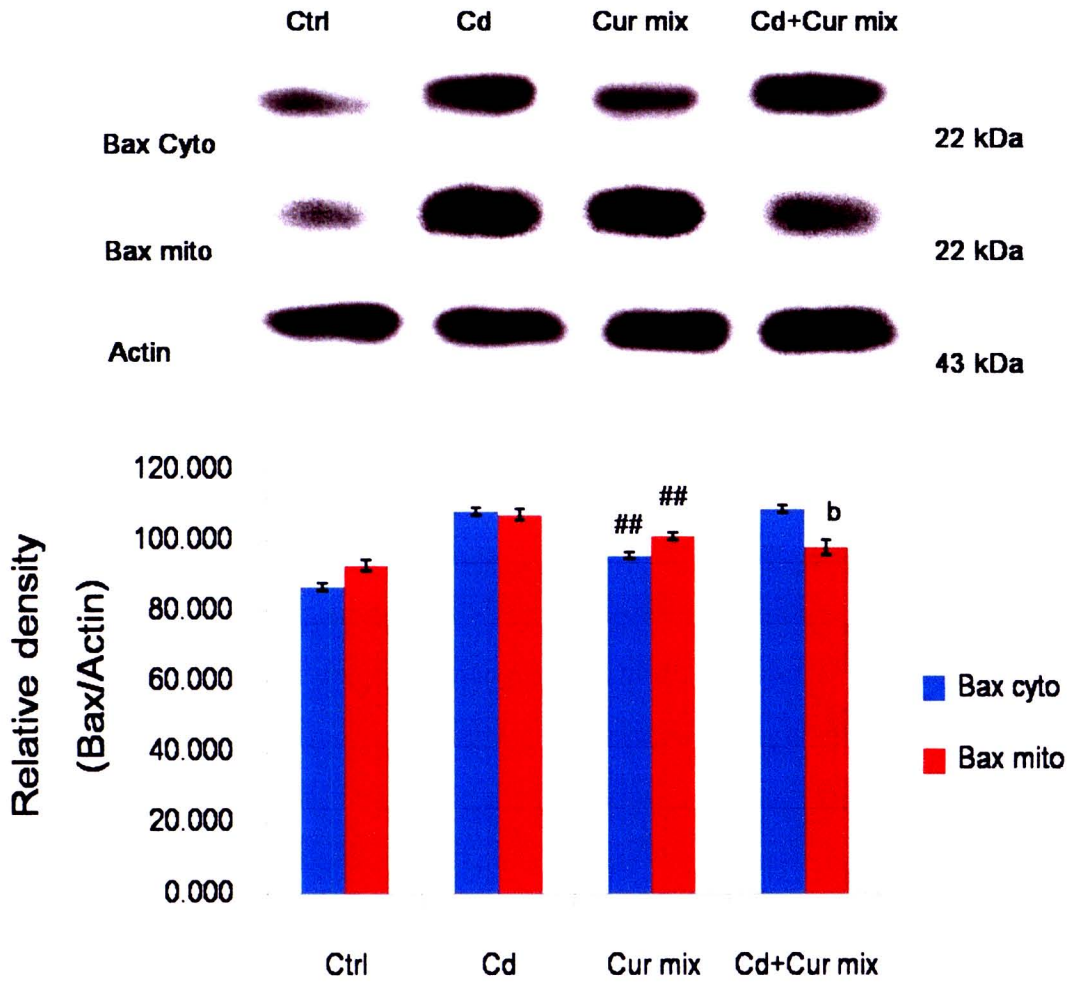
จากผลการวิเคราะห์ของสารที่ 1 (curcumin) สารที่เป็น mixture (analogs 1+2+3) และสารที่ 4 (mono-*O*-demethylcurcumin) ต่อค่าเฉลี่ยการแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการตายแบบอะพอพโทซิสในเซลล์ไตเพาะเลี้ยงหลังจากได้รับการเหนี่ยวนำด้วยแคดเมียม ($CdCl_2$) สรุปได้ว่าในกลุ่มที่ได้รับสารที่ 1 (curcumin) และสารที่เป็น mixture (analogs 1+2+3) มีผลต่อการแสดงออกของโปรตีน Bax ใน mitochondria ลดลงอย่างเด่นชัด ส่วนในกลุ่มที่ได้รับสารที่ 4 (mono-*O*-demethylcurcumin) มีผลการแสดงออกของโปรตีน Bcl-2 ใน mitochondria เพิ่มมากขึ้น ซึ่งจะเห็นได้ว่าสารแต่ละสารมีผลต่อการแสดงออกของโปรตีน Bax และ Bcl-2 ที่แตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับคุณสมบัติในตัวของสารต่อการต้านการตายของเซลล์ไตเพาะเลี้ยงหลังได้รับการเหนี่ยวนำด้วยแคดเมียม ดังแสดงสรุปไว้ในตาราง 3



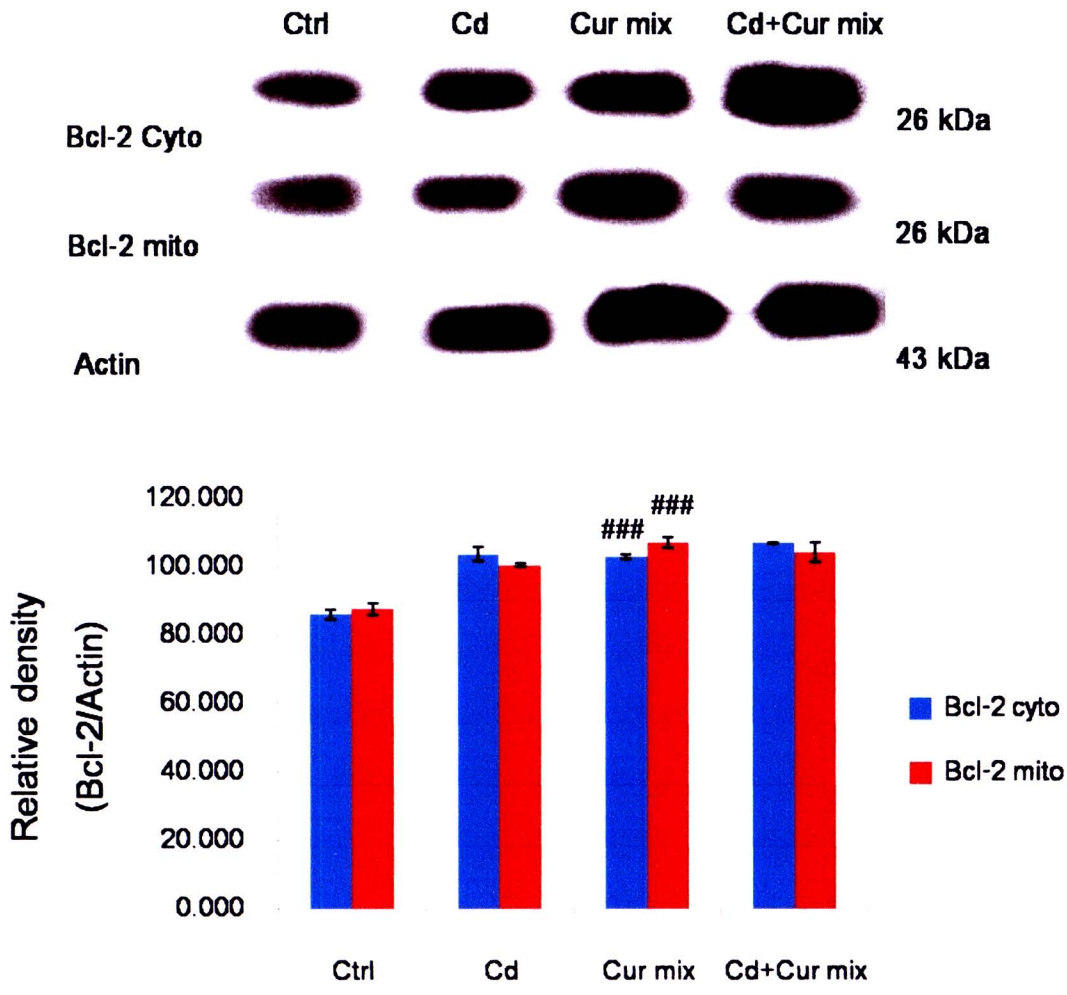
ภาพ 43 แสดงกราฟการวิเคราะห์ผลของกลุ่มเซลล์ไตเพาะเลี้ยงที่ได้รับสารที่ 1 (curcumin) ต่อค่าเฉลี่ยการแสดงออกของโปรตีน Bax ใน cytosol และ mitochondria ($^{\#\#}p<0.01$ เทียบกับกลุ่มควบคุม) ($^{b}p<0.01$ เทียบกับกลุ่มเซลล์ไตเพาะเลี้ยงที่ได้รับแคดเมียม) (กราฟแต่ละแท่งแสดงค่าเฉลี่ย Mean ± S.D.)



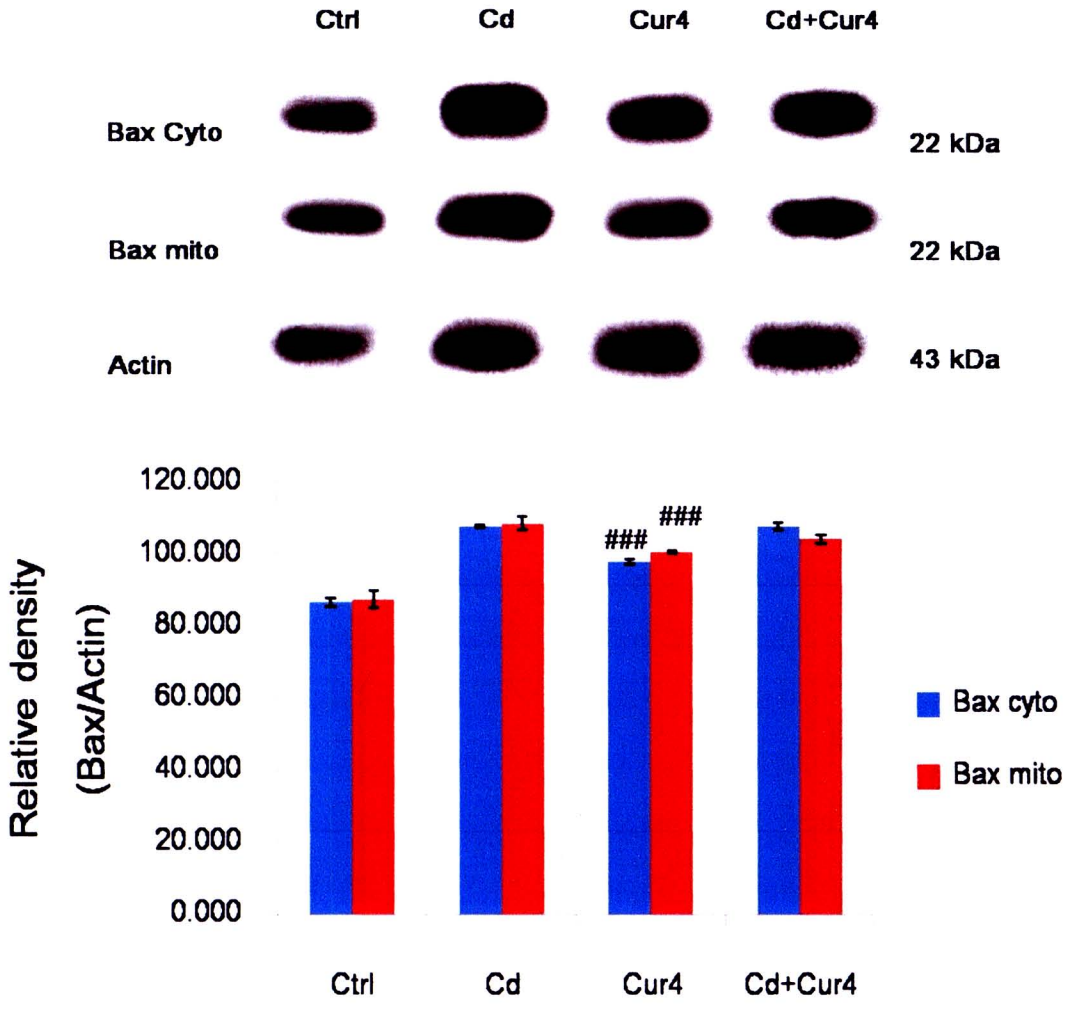
ภาพ 44 แสดงกราฟการวิเคราะห์ผลของกลุ่มเซลล์ไตเพาะเลี้ยงที่ได้รับสารที่ 1 (curcumin) ต่อค่าเฉลี่ยการแสดงออกของโปรตีน Bcl-2 **ใน** cytosol **และ** mitochondria (###p< 0.001 **เทียบกับกลุ่มควบคุม) (**cp<0.001 **เทียบกับกลุ่มเซลล์ไตเพาะเลี้ยงที่ได้รับแคดเมียม) (กราฟแต่ละแท่งแสดงค่าเฉลี่ย** Mean ± S.D.)



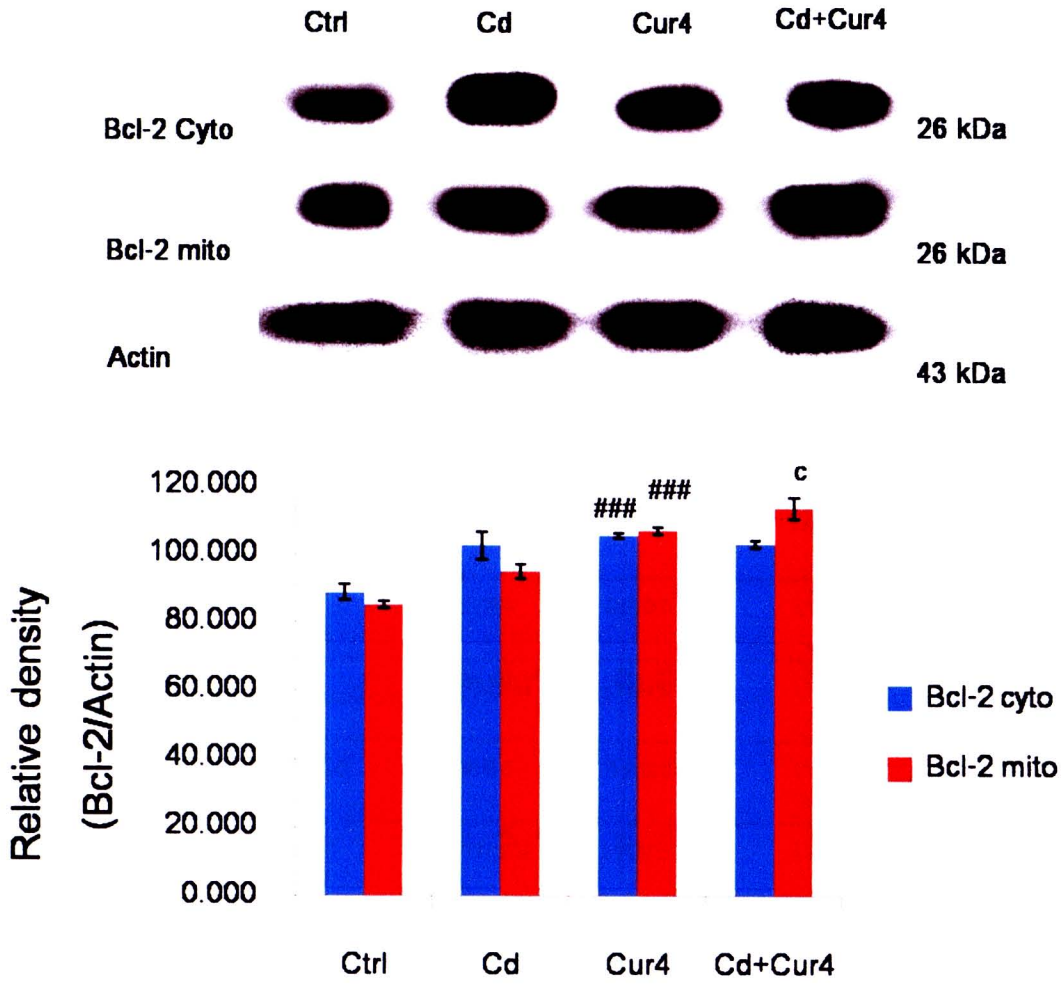
ภาพ 45 แสดงกราฟการวิเคราะห์ผลของกลุ่มเซลล์ไตเพาะเลี้ยงที่ได้รับสารที่เป็น mixture (analogs 1+2+3) **ต่อค่าเฉลี่ยการแสดงออกของโปรตีน** Bax **ใน** cytosol **และ** mitochondria
(##p<0.01 **เทียบกับกลุ่มควบคุม**)
(bp<0.01 **เทียบกับกลุ่มเซลล์ไตเพาะเลี้ยงที่ได้รับแคดเมียม**)
(**กราฟแต่ละแท่งแสดงค่าเฉลี่ย** Mean ± S.D.)



ภาพ 46 แสดงกราฟการวิเคราะห์ผลของกลุ่มเซลล์ไตเพาะเลี้ยงที่ได้รับสารที่เป็น mixture (analogs 1+2+3) **ต่อค่าเฉลี่ยการแสดงออกของโปรตีน** Bcl-2 **ใน** cytosol **และ** mitochondria (###$p<0.001$ **เทียบกับกลุ่มควบคุม)**
(กราฟแต่ละแท่งแสดงค่าเฉลี่ย Mean ± S.D.)



ภาพ 47 แสดงกราฟการวิเคราะห์ผลของกลุ่มเซลล์ไตเพาะเลี้ยงที่ได้รับสารที่เป็น 4 (mono-*O*-demethylcurcumin) **ต่อค่าเฉลี่ยการแสดงออกของโปรตีน** Bax **ใน** cytosol **และ** mitochondria (###p< 0.001 **เทียบกับกลุ่มควบคุม**)
(**กราฟแต่ละแท่งแสดงค่าเฉลี่ย** Mean ± S.D.)



ภาพ 48 แสดงกราฟการวิเคราะห์ผลของกลุ่มเซลล์ไตเพาะเลี้ยงที่ได้รับสารที่เป็น 4 (mono-*O*-demethylcurcumin) **ต่อค่าเฉลี่ยการแสดงออกของโปรตีน** Bcl-2 **ใน** cytosol **และ** mitochondria
(###$p<0.001$ **เทียบกับกลุ่มควบคุม)**
(c$p<0.001$ **เทียบกับกลุ่มเซลล์ไตเพาะเลี้ยงที่ได้รับแคดเมียม)**
(กราฟแต่ละแท่งแสดงค่าเฉลี่ย Mean ± S.D.)

ตาราง 3 สรุปผลการแสดงออกของโปรตีน Bax และ Bcl-2 ใน cytosol และ mitochondria ของเซลล์ไตเพาะเลี้ยง

	โปรตีน			
	Bax		Bcl-2	
สาร	Cytosol	Mitochondria	Cytosol	Mitochondria
Cadmium (Cd)	เพิ่มขึ้น$^{###}$	เพิ่มขึ้น$^{###}$	เพิ่มขึ้น$^{###}$	เพิ่มขึ้น$^{###}$
Curcumin	เพิ่มขึ้น$^{##}$	เพิ่มขึ้น	เพิ่มขึ้น$^{##}$	เพิ่มขึ้น
Curcumin + Cd	ลดลง	ลดลง^{b}	เพิ่มขึ้น^{c}	เพิ่มขึ้น
Curcuminoids (1+2+3)	เพิ่มขึ้น$^{##}$	เพิ่มขึ้น$^{##}$	เพิ่มขึ้น$^{###}$	เพิ่มขึ้น$^{###}$
Curcuminoids (1+2+3) + Cd	ลดลง	ลดลง^{b}	เพิ่มขึ้น	เพิ่มขึ้น
Mono-*O*-demethylcurcumin	เพิ่มขึ้น$^{###}$	เพิ่มขึ้น$^{###}$	เพิ่มขึ้น$^{###}$	เพิ่มขึ้น$^{###}$
Mono-*O*-demethylcurcumin + Cd	เพิ่มขึ้น	เพิ่มขึ้น	ลดลง	เพิ่มขึ้น^{c}

หมายเหตุ : ($^{##}p<0.01$, $^{###}p<0.001$ เทียบกับกลุ่มควบคุม) ($^{b}p<0.01$, $^{c}p<0.001$ เทียบกับกลุ่มเซลล์ไตเพาะเลี้ยงที่ได้รับแคดเมียม)